

Aus der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Zentrallaboratoriums
für den Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes in Bern
(Leiter: Dr. A. Hässig) der medizinischen Abteilung des Kantonsspitals
Winterthur (Prof. F. Wuhrmann) und der medizinischen Universitätsklinik
Zürich (Direktor: Prof. W. Löffler)

Arbeit unter Leitung von Dr. A. Hässig, Prof. F. Wuhrmann
und Dr. Ch. Wunderly

Zur Antigenanalyse der Paraproteine bei Makroglobulinämien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität
ZÜRICH

vorgelegt von

HANS HABICH
von Rheinfelden (Aargau)

Genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. W. Löffler

Zürich 1953
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507223_0038

Aus der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Zentrallaboratoriums
für den Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes in Bern
(Leiter: Dr. A. Hässig) der medizinischen Abteilung des Kantonsspitals
Winterthur (Prof. F. Wuhrmann) und der medizinischen Universitätsklinik
Zürich (Direktor: Prof. W. Löffler)

Arbeit unter Leitung von Dr. A. Hässig, Prof. F. Wuhrmann
und Dr. Ch. Wunderly

Zur Antigenanalyse der Paraproteine bei Makroglobulinämien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität
ZÜRICH

vorgelegt von
HANS HABICH
von Rheinfelden (Aargau)

Genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. W. Löffler

Zürich 1953
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel



Sonderabdruck aus der Schweizerischen Medizinischen Wochenschrift
83. Jahrgang 1953, Nr. 52, Seite 1253

In den Jahren 1949/50 berichteten *F. Wuhrmann*, *Ch. Wunderly*, *A. Hässig* und *F. Hugentobler* (1, 2) über immunologische Untersuchungen beim Plasmacytom. Es gelang ihnen damals, mit Hilfe von abgesättigten Kaninchenimmunseren bei 4 von insgesamt 10 Plasmacytomseren individualspezifische Paraproteine nachzuweisen. Im Laufe des vergangenen Jahres haben wir mit derselben Methode 16 sedimentationsanalytisch gesicherte Makroglobulinämien untersucht. Bevor wir auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen näher eintreten, scheint es uns angezeigt, kurz auf die klinischen und eiweißchemischen Befunde dieser Krankheit hinzuweisen.

J. Waldenström (3-6) hat seit 1944 mehrfach auf ein Syndrom hingewiesen, das vorwiegend bei älteren Männern auftritt und wie folgt charakterisiert werden kann: Nach einer länger dauernden uncharakteristischen Vorgeschichte mit Müdigkeit, Blässe, Kurzatmigkeit und zunehmender Gewichtsabnahme treten meistens recidivierende Schleimhautblutungen auf, welche die schon bestehende Anämie noch verstärken. Bei der Mehrzahl der Fälle findet man indolente Lymphknotenschwellungen; oft beobachtet man zudem eine mehr oder minder ausgeprägte Hepatosplenomegalie. Die histologische Untersuchung der Lymphknoten ergibt eine lymphoidzellige Infiltration mit Verwischung und teilweiser Zerstörung der Lymphknotenstruktur, die zunächst an ein Sarkom bzw. an eine chronische lymphatische Leukämie denken läßt. Das Sternalmark ist ebenfalls durchsetzt mit kleinen lymphoiden Zellen. Skelettschmerzen und die für das Plasmacytom typischen röntgenologischen Knochenveränderungen fehlen. Charakteristisch und diagnostisch bedeutsam sind die Bluteiweißbefunde. Stets findet man eine erhebliche Hyperproteinämie mit ausgesprochener β - bzw. γ -Hyperglobulinämie. Dementsprechend ist die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten stark erhöht; nicht selten beobachtet man Extremwerte von 100 mm und mehr in der ersten Stunde. Die Serumviskosität ist meist stark erhöht; bei der Abkühlung kommt es oft zur spontanen Gelbildung des Serums. Das elektrophoretische Bild zeigt eine homogene, schmale, hohe β - oder

γ -Zacke, wie sie sonst nur beim Plasmacytom beobachtet wird. Bei der Ultrazentrifugenuntersuchung findet man obligat erhebliche Mengen hochmolekularer Eiweiße mit einer Sedimentationskonstante von 15–25 Svedberg-Einheiten. Das Molekulargewicht dieser «Makroglobuline» liegt in der Größenordnung von 1 Million. Dieser Befund ist für die Diagnose beweisend.

J. Waldenström (4) hat selbst 6 Fälle beobachtet. Weitere durch die Ultrazentrifugenuntersuchung gesicherte Fälle wurden von W. Tischendorf und F. Hartmann (7), L. Heilmeyer und H. Begemann (8) und F. Schaub (9) beschrieben. Im Rahmen anderer Betrachtungen haben K. Dialer (10), G. Riva, K. Dialer und A. Hässig (11), K. Rohr (12), F. Wuhrmann (13), F. Wuhrmann und Ch. Wunderly (14) weitere sedimentationsanalytisch gesicherte Makroglobulinämien kurz erwähnt.

Unsere eigenen Untersuchungen erstreckten sich auf 16 durch den Ultrazentrifugentest gesicherte Makroglobulinämien:

Fall 1. M. F., 74jähr. Mann. Medizinische nichtklinische Abteilung des Inselspitals Bern (Prof. A. Schüpbach). Siehe G. Riva, W. Hitzig und W. H. Minder (15).

Fall 2. H. J., 70jähr. Mann. Medizinische Abteilung des Kantonsspitals Aarau (Prof. A. Alder). Siehe F. Schaub (9) (dort Fall 2).

Fall 3. E. K., 63jähr. Mann. Medizinische Abteilung des Kantonsspitals Winterthur (Prof. F. Wuhrmann). Siehe H. Habich, A. Hässig, F. Wuhrmann und Ch. Wunderly (16).

Fall 4. H. R., 68jähr. Mann. Medizinische Abteilung des Kantonsspitals Winterthur (Prof. F. Wuhrmann). Siehe H. Habich, A. Hässig, F. Wuhrmann und Ch. Wunderly (16).

Fall 5. F. H., 72jähr. Mann. Medizinische Abteilung des Kantonsspitals Winterthur (Prof. F. Wuhrmann). Siehe H. Habich, A. Hässig, F. Wuhrmann und Ch. Wunderly (16).

Fall 6. T. E., 70jähr. Mann. 1. Medizinische Universitätsklinik, Bürgerhospital Basel (Prof. H. Staub). Nicht veröffentlicht.

Fall 7. W. E., 46jähr. Frau. Medizinische Universitätspoliklinik Zürich (Prof. P. H. Rossier). Siehe F. Schaub (17).

Fall 8. K. M., 46jähr. Frau. Medizinische Abteilung des Tiefenauspitals Bern (Dr. H. Büchler). Nicht veröffentlicht.

Fall 9. A. J., 45jähr. Frau. Medizinische Universitätspoliklinik Bern (Prof. W. Hadorn). Siehe G. Riva, K. Dialer und A. Hässig (11) (Fall 2); H. Bader (19) (Fall 12); G. Riva, W. Hitzig und W. H. Minder (15).

Fall 10. S. W., 73jähr. Frau. Medizinische Abteilung des Kantonsspitals Winterthur (Prof. F. Wuhrmann). Siehe H. Habich, A. Hässig, F. Wuhrmann und Ch. Wunderly (16).

Fall 11. E. A., 72jähr. Mann. Medizinische Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Prof. L. Heilmeyer). Siehe L. Heilmeyer und H. Begemann (8); A. L. Hitzelsberger und H. Wilde (19).

Fall 12. L. M., 65jähr. Frau. Medizinische Klinik der städtischen Krankenanstalt Köln-Merheim (Prof. *Schulten*). Siehe *H. Kanzow* (20).

Fall 13. H. E., 71jähr. Frau. Medizinische Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Prof. *L. Heilmeyer*). Siehe *H. Schubothe* (21), Fall 3 (erworbene hämolytische Anämie mit nachfolgender Entwicklung einer Makroglobulinämie).

Fall 14. T. H., 35jähr. Frau. Dr. *S. Brändli*, Aarau. Siehe *F. Schaub* (9) (dort Fall 1); *F. Wuhrmann* und *Ch. Wunderly* (14).

Fall 15. K. M., 51jähr. Frau. Medizinische Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Prof. *L. Heilmeyer*). Siehe *A. L. Hitzelsberger* und *H. Wilde* (19).

Fall 16. G. E., 65jähr. Mann. Medizinische Universitätsklinik Zürich (Prof. *W. Löffler*). Nicht veröffentlicht.

Die Immunisierungsversuche wurden mit Patientenserum der Fälle 1–5, 9 und 15 durchgeführt. Im Falle 9 wurden zusätzlich Immunisierungen mit dem Bence-Jones-haltigen Urin vorgenommen. Bei der Immunisierung der Kaninchen hielten wir uns an eines der gebräuchlichen Immunisierungsschemata. Je 3 Kaninchen erhielten in einer ersten Immunisierungsserie in 2tägigen Abständen 6mal je 1 cm³ Patientenserum in die Ohrvene. Nach einer einwöchigen Pause wurden wiederum in 2tägigen Abständen je 0,5 cm³ Patientenserum verabreicht. 10–12 Tage nach der dritten Immunisierungsserie erreichte der Antikörpertiter bei der Mehrzahl der Tiere Werte von 1:10 000 und mehr. Bei denjenigen Tieren, die hochwertige Antikörper aufwiesen, wurden durch Herzpunktion größere Blutentnahmen durchgeführt. Das dabei gewonnene Serum wurde, wie auch sämtliche Patientenseren bis zur Durchführung der Versuche, bei –20° gefroren aufbewahrt. Die Präzipitationen wurden in der üblichen Weise durchgeführt, indem wir in 5 cm lange, 0,4 cm breite Röhren zunächst eine kleine Menge Antigen bzw. Antigenverdünnung einfüllten und anschließend diese vorsichtig mit einer gleichen Menge antikörperhaltigem Kaninchenserum unterschichteten. Die Ablesungen dieser Ringpräzipitationen erfolgten nach 5, 10 und 20 Minuten.

In einer ersten Versuchsreihe wurden die Kaninchenimmunsereen durch stufenweisen Zusatz von normalem menschlichem Mischserum (zusammengemischt aus mindestens 20 Serumproben) so weit abgesättigt, daß sie normale menschliche Seren nicht mehr präzipitierten, aber mit den zur Immunisierung benützten Patientenseren noch kräftig positive Reaktionen zeigten. Ein Beispiel eines solchen Absättigungsversuches ist in der Tabelle 1 festgehalten, wobei im angeführten Versuche ein relativ niedertitriges Kaninchenimmunsereum verwendet wurde. Bei sämtlichen 7 in dieser Weise untersuchten Fällen zeigten die Kaninchenseren nach ausreichender Absättigung mit einem Gemisch menschlicher Normalseren noch kräftig positive Reaktionen mit dem zur Immunisierung benützten Patientenserum. Es ist daher anzunehmen, daß in den Seren dieser 7 Makroglobulinämiepatienten Antigene mit einer Sonderspezifität enthalten sind, die in normalen menschlichen Seren offenbar fehlen.

Tabelle 1

Verhältnis Kaninchen- serum 3 zu Normalser.	Titriert gegen	Verdünnungsstufen des Patientensерums 3 bzw. des Normalserums 1 zu											
		1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
10:1	Patienten- serum 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
	Normalserum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
10:2	Patienten- serum 3	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
	Normalserum	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10:3	Patienten- serum 3	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
	Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10:4	Patienten- serum 3	—	±	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
	Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10:5	Patienten- serum 3	—	—	±	+	+	+	±	—	—	—	—	—
	Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10:6	Patienten- serum 3	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—
	Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Technik: Konstante Mengen Kaninchenimmunserum wurden mit steigenden Mengen Normalserum absorbiert. Absorptionsdauer 20 Min. 4°. Nach Abzentrifugieren des Niederschlages wurde das absorbierte Kaninchenserum im Ringpräzipitationsversuch gegen das homologe Antigen und gegen Normalserum aus titriert.

Zur näheren Charakterisierung dieser sonderspezifischen Antigene wurden die Patientenserum der Fälle 1, 2 und 4 mit Hilfe der präparativen Papierelektrophorese (Technik: s. *Ch. Wunderly* [22]) in 8 Subfraktionen aufgetrennt; der Eiweißgehalt der 8 aus den Papierstreifen gewonnenen Eluate wurde im Beckman-Spektrophotometer auf 350 mg% angeglichen, so daß für die anschließend durchgeführten Präzipitationsversuche Antigenlösungen mit gleichem Eiweißgehalt zur Verfügung standen. Bei der Präzipitation mit homologen absorbierten Kaninchenserum zeigte sich, daß die in makroglobulinhaltigen Patientenserum enthaltenen sonderspezifischen Antigene im elektrischen Felde dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit wie die bei dieser Krankheit typischerweise auftretenden pathologischen β - bzw. γ -Globuline aufweisen (s. Tabelle 2). Diese Feststellung sowie die Beobachtung, daß Kaninchenserum von Tieren, die während längerer Zeit mit makro-

Tabelle 2

Subfraktionen des Patienten- serums 1	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Albumin 1	—	—	—	—	—	—	—	—
Albumin 2	—	—	—	—	—	—	—	—
α -Globulin 1	—	—	—	—	—	—	—	—
α -Globulin 2	—	—	—	—	—	—	—	—
β -Globulin 1	+	+	±	±	—	—	—	—
β -Globulin 2	+	+	+	+	+	±	±	—
γ -Globulin 1	+	+	±	±	—	—	—	—
γ -Globulin 2	—	—	—	—	—	—	—	—

Technik: Absorbiertes Kaninchenimmenserum 1 wurde im Ringpräzipitationsversuch gegen Verdünnungen der 8 durch präparative Papierelektrophorese gewonnenen und auf einen Eiweißgehalt von 350 mg% angeglichenen Subfraktionen des Patientenserums 1 (β_2 -Makroglobulinämie) angesetzt.

globulinhaltigem Patientenserum überimmunisiert worden waren, nach Absättigung mit normalen menschlichen Seren das homologe Antigen oft nur mehr schwach oder überhaupt nicht mehr präzipitieren, gestatten die Annahme, daß es sich bei diesen sonderspezifischen Antigenen um Eiweißkörper handelt, die in ihrer Spezifität von den normalen Serumproteinen nur wenig abweichen und offenbar mit einem Teil der bei der Makroglobulinämie im Serum auftretenden Paraproteine identisch sind.

Im weiteren war es von besonderem Interesse, der Frage nachzugehen, ob bei der Makroglobulinämie vorwiegend individualspezifische Paraproteine vorkommen oder ob es gelingt, krankheitsspezifische Paraproteine nachzuweisen und aus ihrem Nachweis eine diagnostische Methode aufzubauen. Zur Abklärung dieser Frage war es nötig, mit einer größeren Zahl von makroglobulinhaltigen Patientenseren Kreuzpräzipitationsversuche durchzuführen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 3¹ zusammengefaßt. Wie dar-

¹ Die Elektrophoreseuntersuchungen und die Gesamteiweißbestimmungen wurden in folgenden Laboratorien durchgeführt: Eiweißchemisches Laboratorium (Dr. G. Riva) des physiologischen Institutes der Universität Bern (Prof. A. v. Muralt) (Fälle 1, 8 und 9); eiweißchemisches Laboratorium (Dr. E. Wiedemann) der Forschungslaboratorien der Sandoz A.G. Basel (Fälle 2 und 14); chemisches Laboratorium des Kantonsspitals Winterthur (Dr. H. Märki) (Fälle 3, 4, 5 und 10); Eiweißlaboratorium (Dr. G. Viollier) der 1. medizinischen Universitätsklinik Basel (Prof. H. Staub) (Fall 6); Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik Zürich (Prof. P. H. Rossier) (Fall 7); klinisch-chemisches Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Prof. L. Heilmeyer)

aus zu erschen ist, zeigten die absorbierten Kaninchenserum 1-4 mit 14 der 16 untersuchten Fälle krankheitsspezifische Kreuzreaktionen mit Titerwerten von über 1:32. Beim Patientenserum 14 fanden wir stets eine negative Prozone. Das Patientenserum 15 zeigte mit den Kaninchenserum 3 und 4 schwache Präzipitationen bis zur Verdünnung von 1:16, während das Patientenserum 16 durch die abgesättigten Kaninchenserum 2, 3 und 4 überhaupt nicht präzipitiert wurde. Die abgesättigten Kaninchenserum 1-4 zeigten mit 11 Plasmacytomserum (7 β -, 4 γ -Plasmacytome), 8 Leukämieserum (2 lymphatische, 6 myeloische Leukämien), 40 Dysproteinämieserum (entzündlicher und neoplastischer Genese) und 105 Normalserum ausnahmslos negative Reaktionen. Einzig bei einem Fall von Hyperglobulinämie bei einem Sjögrenschens Syndrom (Dr. H. Scholer, Liestal; Prof. F. Wuhrmann, medizinische Abteilung, Kantonsspital Winterthur), bei einem Fall von myeloischer Leukämie (Dr. W. Baumgartner, medizinische Abteilung, Bezirksspital Interlaken) und einem Fall von splenogener Markhemmung (Dr. H. Büchler, medizinische Abteilung, Tiefenau-spital Bern) fanden wir mit den abgesättigten Kaninchenserum 1-4 schwache Präzipitationen bis zu Patientenserumverdünnungen von 1:16. Bei den ersten 2 dieser 3 Fälle wurde eine Ultrazentrifugenuntersuchung vorgenommen, wobei im ersten Falle 2,5%, im zweiten Falle 4% Makroglobuline gefunden wurden. Der Gehalt des normalen Serums an Eiweißen mit der Sedimentationskonstante 20-s beträgt 2-4% (6, 23, 24). Wenn man die niederen Titerwerte bis 1:32 als unspezifisch bzw. als nicht sicher spezifisch betrachtet, darf der Kreuzpräzipitationsversuch bei 14 der untersuchten 16 Fälle als positiv bewertet werden. Daraus kann geschlossen werden, daß bei der Mehrzahl, aber nicht bei allen Makroglobulinämien im Serum ein krankheitsspezifischer Eiweißkörper vorkommt, der mit entsprechend abgesättigten Kaninchenimmenserum erfaßt werden kann. Einen Hinweis für die diagnostische Verwertbarkeit

(Fälle 11, 13 und 15); klinisch-chemisches Laboratorium der städtischen Krankenanstalt Köln-Merheim (Prof. H. Schulten) (Fall 12); eiweißchemisches Laboratorium (Dr. Ch. Wunderly) der medizinischen Universitätsklinik Zürich (Prof. W. Löffler) (Fall 16). - Die Ultrazentrifugierungen wurden in folgenden Laboratorien durchgeführt: Ultrazentrifugenlaboratorium (Dr. K. Dialer, Dr. K. Vogler) der Forschungslaboratorien der F. Hoffmann-La Roche A.G. Basel (Fälle 1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16); eiweißchemisches Laboratorium (Dr. E. Wiedemann) der Forschungslaboratorien der Sandoz A.G. Basel (Fälle 2, 7, 8); Ultrazentrifugenlaboratorium (Dr. Scholtan) des pharmakologischen Institutes der Farbenfabriken Bayer, Elberfeld (Prof. Weese) (Fall 12).

Tabelle 3

	Gesamt- eiweiß g %	Elektrophoresenuntersuchungen (relative %)					Ultrazentrifugenuntersuchungen (relative % und Sedimentationskonstanten)					Kreuzpräzipitationen mit absorbierten Kaninchenseren 1-4						
		Albumin	α -Globulin		β -Globulin	Extra- gradient zwischen β - γ -Globul.	γ -Globulin	x-Komponente rel. % S	4,5-s-Komponente		7-s-Komponente		Makroglobuline					
			α_1	α_2	β_1	β	γ_1		rel. %	S	rel. %	S	rel. %	S				
1. M.F.	10,4	14,4	1,7	2,1	5,5	45,3 M ₁ 20,4 M ₂	10,6		55,0	4,0-s	2,5	10,6-s	39,0 3,5	15,5-s 17,1-s	1:1024	1:1024	1:2048	1:512
2. H.J.	8,5	21,6	6,5	6,8	7,4	53,1 ζ	4,4	+++ Befund auf Makroglobuline. 3 Teilchen- größen. Mittlere Hauptkomponenten 15,4-s							1:1024	1:4096	1:4096	1:2048
3. E.K.	10,5	20,7	3,0	2,2	3,4	64,4	6,3	2,5	62,0	4,5-s	11,5	7-s	24,0	20-s	1:1024	1:4096	1:4096	1:2048
4. H.R.	11,4	16,3		2,8	1,7		77,7		33,0	4,5-s	3,0	7-s	56,0	17,5-s 5,0 24-s	1:512	1:2048	1:2048	1:2048
5. F.H.	8,8	44,8	3,6	4,9	9,5		32,2	2,0	62,5	4,5-s	7,5	7-s	26,0	17-s 2,0 26-s	1:512	1:512	1:512	1:512
6. T.E.	9,0	36,7	5,2	5,7	9,4	7 H	36,0		63,0	4,5-s	8,0	7-s	24,0	18-s 5,0 26,5-s	1:512	1:512	1:512	1:512
7. W.E.	7,8	31,0	4,5	11,0	10,0		43,5	+++ Befund auf Makroglobuline. Im wesent- lichen 1 Teilchengröße mit 15,9-s							1:256	1:512	1:512	1:512
8. K.M.	11,0	35,2	2,1	8,3	5,0	2,5	42,3 M	4,6	+++ Befund auf Makroglobuline. Im wesentlichen 1 Teilchengröße. Sedimentationskonstante um 16-s						1:512	1:512	1:512	1:512
9. A.J.	7,9	35,3	1,3	5,1	6,2	47,8 M	4,3		70,0	4,5 + 7-s			2,0 14-s 28,0 18-s		1:512	1:512	1:1024	1:1024
10. S.W.	6,25	25,1	7,3	18,6	12,9	28,3	7,8		73,0	4,5-s	0,0	7-s	24,0 17-s 3,0 22,5-s		1:1024	1:512	1:256	1:256
11. E.A.	7,0	31,0		8,0	12,0		49,0		49,0	4,2-s	25,0	6,3-s	26,0 16,6-s		1:256	1:256	1:512	1:512
12. L.M.	10,4	40,7	3,8	6,5	4,1	2,8	42,1		nicht mitgeteilt				15,2 15,4-s 4,0 26,4-s		1:256	1:256	1:512	1:512
13. H.E.	9,8	37,5	5,5	12,0	11,3		33,7		58,1	4-s	19,1	6-s	22,8 16-s		1:256	1:256	1:512	1:512
14. T.H.	8,0	37,0	3,8	5,7	1,6	7,1	41,8 ζ		53,9	4,4-s	4,5	6,2-s	37,9 16-s 3,8 22-s		1:16 bis 1:64	1:128 bis 1:512	1:64 bis 1:256	1:16 neg.
15. K.M.	10,7						Hyper- γ - Globulinativ 3,3	3,0	63,5	4,5-s	18,0	7-s	13,5 19,5-s		1:16 neg.	neg.	neg.	neg.
16. G.E.	10,8	20,2	3,3	6,3	4,5	62,4			58,0	4,4-s	15,0	6,9-s	27,0 18,4-s		neg.	neg.	neg.	neg.
Normal- werte	6-7,5	65-70	2-6		9-13	0	14-18		65-75	4,5-s	25-35	7-s	0-4 20-s		neg.	neg.	neg.	neg.

des Kreuzpräzipitationsversuches bietet der Umstand, daß bei fünf Fällen (Fall 4, 6, 7, 8 und 13) erst auf Grund des positiven Ausfalles dieser Reaktion eine Ultrazentrifugenuntersuchung veranlaßt wurde, welche die Verdachtsdiagnose bestätigte.

Im weiteren stellte sich die Frage, *ob in Makroglobulinämieseren neben den für den positiven Ausfall der Kreuzpräzipitationen verantwortlichen krankheitsspezifischen Paraproteinen auch individualspezifische Paraproteine vorkommen.* Solche Eiweißkörper konnten bei Immunisierungsversuchen mit Patientenserum der Fälle 5 und 16 direkt nachgewiesen werden. Obschon das Patientenserum des Falles 5 durch die abgesättigten Kaninchenseren 1–4 bis zu Verdünnungen von 1:512 präzipitiert wurde, zeigten die Kaninchenseren 5 nach Absättigung mit menschlichen Normalseren nur mehr positive Präzipitationen mit dem zur Immunisierung benutzten Serum 5 (Titer 1:512), nicht aber mit den Patientenseren 1–4 und 14. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse ist anzunehmen, daß im Falle 5 wohl krankheitsspezifische Paraproteine vorkommen, daß diese aber beim Immunisierungsversuch zufolge der gleichzeitigen Anwesenheit von stärker antigen wirksamen individualspezifischen Paraproteinen in ihrer antigenen Wirksamkeit unterdrückt wurden. Die Seren von Kaninchen, die mit Patientenserum 16 vorbehandelt worden waren, zeigten nach Absättigung mit normalen menschlichen Seren nur mehr positive Präzipitationen gegen das homologe Antigen (Titer 1:256); im Ansatz mit den Patientenseren 1–5 und 10 konnten keine positiven Kreuzreaktionen festgestellt werden. In diesem Falle muß angenommen werden, daß die für den positiven Ausfall der Kreuzpräzipitationen verantwortlichen Paraproteine fehlen, daß aber anderseits immunologisch faßbare individualspezifische Paraproteine im Patientenserum 16 enthalten sind. In kombinierten Absättigungsversuchen gelang es auch, in den Seren 2 und 4 nebst krankheitsspezifischen Paraproteinen individualspezifische Eiweißkörper nachzuweisen. Ein typisches Beispiel aus dieser Versuchsreihe ist in der Tabelle 4 enthalten. Wie daraus zu ersehen ist, präzipitierten die Kaninchenseren nach Absättigung mit normalem menschlichem Mischserum und makroglobulinhaltigem Patientenserum nur mehr das zur Immunisierung benützte homologe Antigen.

Im Falle 9 haben wir in Zusammenarbeit mit G. Riva (medizinische Universitätspoliklinik Bern) zusätzlich immunologische Untersuchungen mit dem Bence-Jones-haltigen Urin der Patientin durchgeführt. 3 Kaninchen wurden mit Patientenserum, 3 weitere Tiere mit Urin immunisiert. Die Kaninchenseren wurden mit nor-

malem menschlichem Mischserum abgesättigt und im Präzipitationsversuch mit Patientenserum 9, Urin 9 und Normalserum geprüft. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt. Es zeigte sich, daß im Urin wie auch im Serum ein Paraprotein mit gleicher serologischer Spezifität enthalten ist. Die abgesättigten Seren derjenigen Tiere, die mit Serum 9 immunisiert worden waren, zeigten mit stufenweise verdünntem Urin 9 keine

Tabelle 4

	1 zu												
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
Kaninchenserum 4 absorbiert mit Normalserum, titriert gegen:													
Patientenserum 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
Patientenserum 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
Patientenserum 5	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
Patientenserum 7	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Kaninchenserum 4 absorbiert mit Normalserum und Patientenserum 3, titriert gegen:

Patientenserum 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
Patientenserum 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Patientenserum 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Patientenserum 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Technik: Kaninchenimmunserum 4 wurde im Verhältnis 5:3 mit Normalserum abgesättigt. Nach erfolgter Absättigung wurde die Hälfte im Verhältnis 5:0,4 mit Patientenserum 3 abgesättigt. Beide Teile wurden gegen Verdünnungen der Patientenseren 3, 4, 5 und 7 sowie Normalserum im Ringpräzipitationsversuch austitriert.

Tabelle 5

	1 zu											
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
Kaninchenserum (Antiserum 9) absorbiert mit Normalserum, titriert gegen:												
Patientenserum 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
Patientenurin 9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchenserum (Antiurin 9) absorbiert mit Normalserum, titriert gegen:												
Patientenserum 9	—	—	±	+	+	+	+	±	—	—	—	—
Patientenurin 9	—	—	—	±	+	+	+	+	±	—	—	—
Normalserum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Technik: siehe Text.

Präzipitationen, was wohl am ehesten dadurch zu erklären ist, daß im Serum 9 die Bence-Jones-Komponente gegenüber anderen, wahrscheinlich höher molekularen Paraproteinen mengenmäßig derart zurücktritt, daß sie nach dem Gesetz der Konkurrenz der Antigene bei der Immunisierung der Kaninchen keine faßbare Bildung spezifischer Antikörper verursachte. Da diese Versuche bereits 1950 durchgeführt worden waren und nur eine kleine Menge lyophilisiertes Patientenserum 9, jedoch keine Kaninchenserum 9 aufbewahrt worden waren, konnten keine Kreuzversuche mit den makroglobulinhaltigen Patientenserum 1-8, 10-16 und den Bence-Jonesschen Eiweißkörper enthaltenden Urinen der Fälle 1, 4 und 16 durchgeführt werden.

Beim epikritischen Ueberblick über unsere Versuchsergebnisse gelangt man zu folgenden Feststellungen: *Im Serum von Patienten mit Waldenströmscher Makroglobulinämie treten Eiweißkörper auf, deren immunologische Spezifität so weit von den normalen menschlichen Serumproteinen abweicht, daß sie mit abgesättigten Kaninchenimmunserum im Präzipitationsversuch direkt erfaßt werden können.* Diese Eiweißkörper wandern im elektrischen Felde mit derselben Geschwindigkeit wie die für diese Krankheit charakteristischen atypischen β - bzw. γ -Globuline. *Ein Teil dieser Paraproteine ist individualspezifisch, d. h. sie zeigen eine für den betreffenden Patienten charakteristische und nur bei ihm vorgefundene Spezifität. Neben diesen individualspezifischen Paraproteinen existieren bei der Mehrzahl der Makroglobulinämien krankheitsspezifische Paraproteine, die durch Kreuzpräzipitationsversuche erfaßt werden können. Es gelang uns, bei 14 von insgesamt 16 Makroglobulinämien diese krankheitsspezifischen Eiweißkörper zu erfassen. Da aber der Kreuzpräzipitationsversuch bei 2 Fällen versagt hat, bzw. signifikante Titerwerte nicht ermittelt werden konnten, darf unseres Erachtens diesem Versuch nur eine beschränkte diagnostische Bedeutung beigemessen werden. Er vermag die Ultrazentrifuguntersuchung des Serums von Verdachtsfällen in wertvoller Weise zu ergänzen, aber nicht zu ersetzen.*

Zusammenfassung. Mit Hilfe von abgesättigten präzipitierenden Kaninchenimmunserum gelang es, im Serum von Makroglobulinämiepatienten Paraproteine nachzuweisen, deren immunologische Spezifität von derjenigen der normalen menschlichen Bluteiweißkörper abweicht. Ein Teil dieser Paraproteine ist individualspezifisch. Daneben existieren bei der Mehrzahl der Makroglobulinämien krankheitsspezifische Paraproteine, die durch Kreuzpräzipitationsversuche erfaßt werden können.

Für die Ueberlassung der Patientenserien und der zugehörigen eiweiß-chemischen Befunde bin ich den im Text erwähnten Klinik- und Institutsvorstehern sehr zu Dank verpflichtet. Fräulein *R. Hässig* bin ich für ihre wertvolle technische Mithilfe zu großem Dank verpflichtet.

1. *Wuhrmann, F., Wunderly, Ch., Hässig, A., und Hugentobler, F.*: *Helv. med. Acta* **16**, 279 (1949). – 2. *Wuhrmann, F., Wunderly, Ch., und Hässig, A.*: *Brit. J. exper. Path.* **31**, 507 (1950). – 3. *Waldenström, J.*: *Acta med. scand.* **117**, 216 (1944). – 4. *Waldenström, J.*: *Schweiz. med. Wschr.* **78**, 927 (1948). – 5. *Waldenström, J.*: *Presse méd.* **57**, 213 (1949). – 6. *Waldenström, J.*: *Adv. int. Med.* **5**, 414 (1952). – 7. *Tischendorf, W., und Hartmann, F.*: *Acta haemat.* **4**, 374 (1950). – 8. *Heilmeyer, L., und Begemann, H.*: *Handbuch der innern Medizin*, Band 2, 752, 1951. – 9. *Schaub, F.*: *Schweiz. med. Wschr.* **82**, 890 (1952). – 10. *Dialer, K.*: *Z. Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie* **55**, 525 (1951). – 11. *Riva, G., Dialer, K., und Hässig, A.*: *Helv. med. Acta* **18**, 401 (1951). – 12. *Rohr, K.*: *Das menschliche Knochenmark*. G. Thieme, Stuttgart 1949. S. 345. – 13. *Wuhrmann, F.*: *Schweiz. med. Wschr.* **82**, 937 (1952). – 14. *Wuhrmann, F., und Wunderly, Ch.*: *Die Bluteiweißkörper des Menschen*. S. 295. Benno Schwabe, Basel 1952. – 15. *Riva, G., Hitzig, W., und Minder, W. H.*: in Vorbereitung. – 16. *Habich, H., Hässig, A., Wuhrmann, F., und Wunderly, Ch.*: in Vorbereitung. – 17. *Schaub, F.*: *Schweiz. med. Wschr.* **83**, 1256 (1953). – 18. *Bader, H.*: *Schweiz. Z. Path.* **15**, 139 (1952). – 19. *Hitzelsberger, A. L., und Wilde, H.*: *Blood* (im Druck). – 20. *Kanzow*: *Klin. Wschr.* (im Druck). – 21. *Schuboth, H.*: *Verh. d. Dtsch. Ges. f. inn. Med. u. d. Ges. dtsch. Hämatologen*. 58. Kongr. in Wiesbaden 21.–26. April 1952. J. F. Bergmann, München 1952. S. 679. – 22. *Wunderly, Ch.*: *Chimia* 1953 (im Druck). – 23. *Oncley, J. L.*: *zit. nach* 10. – 24. *Gutman, A. B.*: *Adv. Protein Chem.* **4**, 155 (1948).

Curriculum vitae

Geboren am 21. August 1924 in Bern, besuchte ich daselbst die Primarschule und das städtische Gymnasium und schloß 1944 mit der Maturität die Mittelschule ab. Anschließend studierte ich Medizin an den Universitäten Bern und Lausanne. Das eidgenössische Staatsexamen bestand ich im Herbst 1951 in Bern. Seither arbeitete ich als Volontärassistent in der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Zentrallaboratoriums für den Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes.

